

DECLARATION

I, the undersigned, of 824-11, Yeoksam-dong, Kangnam-gu, Seoul, Korea do solemnly and sincerely declare that I well understand both Korean and English languages and the attached English version is a true and faithful translation of the order letter for Korean Patent Application. No. 2001-26424 filed with the Korean Intellectual Property Office on May 15, 2001, entitled "Tonic composition comprising wild ginseng as the main ingredient." And I made this solemn declaration conscientiously believing the same to be true.

This 4th day of June, 2004

Eun Myung Byun

Eun-Myung BYUN

삼 성 제 약 공 업 주 식 회 사

우143-140 서울 광진구 모진동 199-6 / 전화(02)2204-3126~9 / 전송(02)2204-3162

문서번호 : 삼약 00-6-7-108

시행일자 : 2000. 12. 20

수 신 : 박사룡 특허법률사무소

제 목 : 야생삼을 주성분으로 함유하는 자양강장조성물 신규특허자료 송부의 건

1. 귀소의 무궁한 발전을 기원합니다.

2. 폐사의 “야생삼을 주성분으로 함유하는 자양강장조성물 신규특허”와 관련하여 관련자료를 첨부와 같이 송부하오니 검토하시어 출원요청합니다.

첨 부 : 야생삼을 주성분으로 함유하는 자양강장조성물 신규특허자료 1부. 끝.

서울 광진구 모진동 199-6
삼 성 제 약 공 업 주 식 회 사
대 표 이 사 김 원



명세서

[발명의 명칭]

야생삼 (Wild ginseng)을 함유하는 식품 및 그 제조방법

[발명의 상세한 설명]

[산업상의 이용분야] 본 발명은 야생삼 (Wild ginseng)을 함유하는 와일드 진생 허브혼합분말 (구성 성분 중 50% 야생삼)을 감미제, 안정화제, 방부제, 점제수등을 첨가하여 제조된 식품에 관한 것이다.

[발명의 목적]

지금까지 우리나라에서는 인삼을 사용한 식품은 존재했으나 야생삼을 사용한 식품은 존재하지 않았다. 이 때문에, 인삼보다 효능이 좋은 것으로 알려져 있는 야생삼을 사용한 식품을 개발하였다.

산삼이라 함은 깊은 산중에 자생하는 야생인삼(野生人蔘)을 말한다. 우리 나라에서 인삼의 재배가 시작되기 이전에는 산에서 야생인삼을 채취하여 이용 하였으나 인삼의 수요가 증가함에 따라 야생인삼 자원은 고갈되어 이의 채취가 어렵게 되고 증가되는 수요를 도저히 충족할 수 없게 되므로서 인삼의 재배가 시도되었다. 인삼의 재배가 시작된 이후 지금까지 이의 재배기술은 계속 발전 되어 왔으며 또한 인삼재배자들에 의하여 때로는 외도적으로 또는 관습적으로 보다 생육이 왕성하고 빠르게 근의 형질이나 수량이 우수한 개체의 선발이 계속되어 왔다. 현재 재배되고 있는 고려인삼과 야생인삼은 모두 동일한 *Panax ginseng*이나 재배인삼과 야생인삼 간에는 생육속도 차이는 물론 경엽 및 근의 형태적인 차이가 현저한데 이는 인삼의 재배가 시작된 이후 지금까지 오랜 기간동안 계속되어온 개체선발의 결과이다.

우리는 이러한 야생삼 (Wild ginseng)을 사용한 내용액제, 환제, 정제등을 개발하고 그 제조방법을 개발하였다.

본 발명에서 우리가 사용한 와일드 진생 허브 혼합 분말은 야생삼분말 50%, 구기자분말, 당귀분말, 천궁분말을 50% 함유한다.

본 발명에서 사용되는 유기산으로는 구연산, 사과산, 주석산, 후발산 기타 사용이 가능한 유기산이다. 이들 유기산은 단독 또는 기타 식용이 가능한 무기산이다. 이들 무기산은 단독 또는 2종이상 혼합하여 사용될 수 있다. 또한 본 발명에서는 유기산과 무기산을 혼합하여 사용할 수 있다.

본 발명에서 사용되는 비타민류로는 비타민C, 비타민 B1(치아민, 열산치아민, 십산치아민), 비티민 B2(리보프라빈, 락토프라빈), 니코틴산(나이아신), 비타민 B6(피리독신), 판토텐산, 비오틴, 몰린, 엽신, 비타민 B12(코발라민), 비타민 A, 비타민 D, 비타민 E등에서 선택된 1종 이상의 비타민을 혼합하여 사용한다. 이들의 사용량은 통상의 비타민 사용량을 사용할 수 있다.

본 발명에서 사용되는 보존제는 안식향산 나트륨, 파라옥시안식향산 페닐, 파라옥시안식

항산 프로필, 파라옥시안식황산 에틸, 및 기타 식품에 용상으로 사용되는 보존제를 사용할 수 있다. 이들은 1종 또는 2종이상 혼합하여 사용될 수 있다. 이들 사용량은 식품첨가물의 사용기준에 따라 사용한다.

본 발명에서 사용되는 향미제로는 오렌지향, 레몬향, 딸기향 및 기타 과일향, 드링크 후 메나 등 천연 또는 인공으로 조합한 향미제를 사용할 수 있다. 이들은 용상으로 사용되는 상용량을 사용한다.

본 발명에서 사용되는 물은 용상의 정제수 또는 증류수를 사용한다. 첨제수를 사용하는 것이 바람직하다.

다음에 실시예 및 실험예로서 본 발명을 더욱 상세히 설명한다.

실시예 1 - 삼성 와일드진생농축액

처방 (50mL중)

와일드 진생 허브 혼합 분말	18.9%
녹용	0.0114%
오기피	0.114%
생로알제리	0.02%
별꽃	10%
백당	5%
농굴리세린	2%
수정	1%
안식향산나트륨	0.057%
산탄검	0.04%
구연산	0.14%
인삼향	0.962%
정제수	적량

세법 : ① 와일드진생허브혼합분말, 녹용, 오기피에 정제수를 가하여 90~95℃에서 3시간 가열하여 추출하고 여과한다.

② ①액을 배합탱크로 이송하고 여기에 산탄검, 별꽃, 백당, 굴리세린, 구연산, 안식향산나트륨을 넣어 완전히 용해될 때까지 교반하여 혼합한다.

③ ②액을 30℃로 식힌다음 주조에 녹인 생로알제리와 인삼향을 넣고 교반하여 혼합하고 정제수로 표선을 맞춘다.

④ ③액을 30분간 교반한 후 5마이크로필터로 여과하고 135℃에서 20초간 순간 열균한 후 충전하고 밀봉한다.

실시예 2 - 삼성 와일드진생 엡센스

처방(10mL중)

와일드 진생 허브 혼합 엑기스 분말	0.3%
Vit. C	0.3%
질산치아민	0.01%
리보플라빈	0.001%

염산파리독신	0.001%
니코틴산 아미드	0.01%
판토텐산 칼슘	0.005%
감초엑기스 분말	0.16%
유당	0.213%
L-아르기닌	0.5%
녹용	0.1%
타우린	0.01%
액상과당	10%
글리세린	4%
백당	1%
구연산	0.38%
인식황산 나트륨	0.058%
산탄검	0.1%
스테비오사이드(50%)	0.03%
인삼향	0.5%
꿀향	0.2%
허브후레바	0.2%
정제수	적량

- 제법 : ① 와일드진생허브혼합분말, 녹용에 정제수를 가하여 90~95℃에서 3시간 가열하여 추출하고 추출액을 여과하여 농축을 한 후 낮은 온도에서 건조하여 엑기스로 한다.
- ② 90~95℃의 정제수에 액상과당, 글리세린, 백당, 구연산, 인식황산나트륨, 산탄검, 타우린, 스테비오사이드를 넣어 완전히 용해될 때까지 교반한다.
- ③ ②를 30℃로 식힌다음 L-아르기닌, 인삼향, 꿀향, 허브후레바를 넣어 혼합 교반 후 여과하여 135℃에서 20초간 순간 열균한 다음 바이알에 충전한다.
- ④ ①의 엑기스, 비타민 C, 비타민 B1 질산염, 비타민 B2, 비타민 B6 염산염, 니코틴산아미드, 판토텐산칼슘, 감초엑기스분말, 유당을 혼합하여 상부용기에 충전하고 바이알을 밀봉한다.

실험에는 뒤에 첨부하였다.

인삼 사포닌의 주요 약리작용

PanaxaOil계	Ginsenoside-Rb ₁	중추신경 억제작용, 쇠약작용, 진통작용, 정신안정작용, 해열작용, 혈청 단백질 합성 촉진작용, 중성지방 분해억제, 합성복신(인슐린 유사)용, 콜레스테롤 생합성 촉진작용, RNA 합성촉진용, 부신피질 출분분비촉진용, 학습 기억력 개선작용, 섬식 억제용, Plasmin활성화 작용
	Ginsenoside-Rb ₂	항당뇨작용, 당뇨병성 질소 병합장애 개선작용, 콜레스테롤 저하작용, DNA RNA 합성촉진작용, 항산화 활성 물질생성 촉진작용, 중추억제작용, 부신피질 출분분비 촉진작용, 암독소 배출에 대한 길항작용, 중앙 혈관신생 억제작용, Plasmin활성화작용
	Ginsenoside-Ro	중추억제작용, RNA 합성억제작용, 혈청 단백질 합성 촉진작용, 부신피질 출분 분비 촉진작용, Plasmin활성화작용
PanaxaTrior계	Ginsenoside-Rd	부신피질 출분 분비 촉진작용
	Ginsenoside-Rg ₃	헵소판 응집 억제작용, 히스타민 유리 및 카테콜아민 분비 억제작용, 알의 전이 억제작용(암세포의 침윤 전이 억제) 등
	Ginsenoside-Rh ₂	암세포 증식 억제작용, 종양 증식 억제작용, 암세포의 재분화 유도작용 등
PanaxaTrior계	Ginsenoside-Re	중추 억제작용, DNA RNA 합성촉진작용, 부신피질 출분 분비 촉진작용, Plasmin활성화작용
	Ginsenoside-Rf ₁	지질과산화 억제작용 중추흥분작용, 항스트레스작용, 항피로작용, 미로회복 촉진작용, 면역기능 증진작용, 학습 기억력 증진작용, DNA RNA 합성촉진작용, 스트레스성 성행동 장애 개선작용, 고온 및 내인성 발열물질에 대한 완충작용, 혈청 콜레스테롤 저하작용, Plasmin활성화작용
	Ginsenoside-Rg ₂	헵소판 응집 억제작용, 학습 기억력 개선작용, 카테콜아민 분비 억제작용, Plasmin활성화작용
Oleanolic acid계	Ginsenoside-Ro	항염증작용, 해독작용, 항트롬빈작용, 헵소판 응집 억제작용, 대식 세포 활성화작용, 평활근 세포증식 억제작용, 항간염작용 등

인삼 (재배삼)과 와일드 진생 (야생삼)의 성분 분석 및 항피로 작용 측정

Analysis and Antifatigue Activities of Ginseng or Wild ginseng

삼성제약 중앙연구소

서론

와일드 진생 혼합분말은 산삼, 구기자, 천궁, 당귀를 주원료로 하고 특히 야생삼이 구성성분 중 50%를 함유하는 분말로 신체의 생리 활성을 높여 줄 수 있는 생약이 함유되어 있다.

이러한 고열탕 엑스와 생리활성을 갖는 생약이 함유되어 있어 이들의 생리활성이 있을 것이라 예측된다. 즉 주성분인 야생삼은 아라 그 작용이 명확히 밝혀지지는 않았지만 그와 비교할 수 있는 인삼 (*Panax ginseng* C.A.Meyer)의 효능을 보면 자양강장, 신경계 흥분작용, 무신피질 촉진작용, 성기능 촉진작용, 강심작용, 혈당저하작용, 식욕촉진작용, 알러지 Anaphylaxis 작용, 장이뇨작용, 항스트레스작용, 항피로작용, 피로회복 촉진작용, 면역기능 촉진작용 등이 있다고 보고되어 있다. 또 구기자 (*Lycii fructus*)는 자양강장, 간세포, 신장 촉진작용 등이 있다고 보고되어 있다. 또 천궁 (*Cnidii rhizoma*)는 구이혈 효과 촉진작용, 간기능개선작용 및 눈을 맑게 해준다고 한다. 당귀 (*Angelicae gigantis radix*)는 보혈강정 효과가 있어 진정, 빈혈, 두통 등에 쓰이고 있다. 이와 같은 성분들의 와일드 진생 혼합분말은 열량이 높고 건강보조효과가 있다고 생각되나 실험적으로 연구된 바 없다. 따라서 피로의 억제력을 시험하는 방법을 개발하여 이 혼합분말이 지구력을 증진시키는지 연구할 가치가 있다.

신체가 피로하게 느끼는 생리 및 생화학적 기전은 이미 밝혀졌다고 볼 수 있다. 피로를 측정하는 실험방법에는 동물의 수영시간 및 휴식시간을 측정하는 forced swimming test 및 낮출타는 운동시간을 측정하여 운동시간을 33% 연장시키는데 소요된 물질의 양(여량)으로 표현하는 Stimulation Unit of Activity (SUA₃₃)가 있으나 저자의 예비실험 결과 동물의 개체차가 심하여 좋은 실험모델이 될 수 없다고 판단되어 항피로작용을 측정할 수 있는 모델을 작성할 필요가 있다. 특히 Noda 등은 forced swimming test를 개량하여 피로실험을 하였다. 이에 우리들은 그 방법을 개량하여 동물 체중에 일정량의 하중을 주어, 수영시간을 측정하는 소위 "4% weight-loaded forced swimming test"로 항피로작용을 측정하는 방법을 개발하여 측정하여야 할 것이다.

인삼의 주요 화학적 성분은 배당체(사포닌)를 위시하여 당류와 유기산, 지용성 성분, 암질소화합물, 비타민류 및 무기성분등으로 구성되어 있으며 이들 중 약리효능에 가장 중요한 성분은 배당체 즉 인삼 사포닌으로 알려져 있다. 그러나 단순한 성분의 약리작용이 아니라 복합적이고, 다양성을 나타내고 있어, 진세노사이드(Ginsenoside)의 구성 정비에 따라

나를 수 있다. 인삼의 사포닌 성분을 일컬어 진세노사이드라 부르는데, 이것은 인삼이란 진생(Ginseng)과 매당체란 글리코사이드(glycoside)가 결합된 복합어로 인삼매당체란 의미이다. 우리는 인삼(제배삼)과 와일드진생(야생삼)중에 총사포닌 함량과 특정 성분인 ginsenoside Rb1을 분석하여 약효를 비교하였다.

따라서 본 연구팀은 와일드진생 혼합분말의 건강보조효과를 측정하기 위하여 mouse에서 swimming time과 인삼과 성분비교를 통하여 약간의 지견을 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

실험방법 및 실험재료

재료 - 와일드진생 혼합분말의 조성은 Table 1과 같다. 대조군인 인삼은 와일드진생과 같은 용량을 사용하였다.

Components of Wild ginseng	
품명	배합량
야생삼분말	225mg
구기자분말	74.97mg
천궁분말	75.015mg
당귀분말	75.015mg
30mL중에	450mg

실험동물 사육조건 - 실험동물은 체중 $18 \pm 5g$ 의 ICR계 mouse를 삼성제약 동물사육실에서 실험은 $23 \pm 2^\circ C$, 상대습도 $60 \pm 2\%$, 조명 12hr/day 으로 설정하여 사육하였다. 동물은 흰 쥐용 cage에 넣고 사료와 물은 자유로이 섭취하도록 하였다.

수영조 제작 및 수영기간 측정 - 가로 15cm, 세로 25cm, 높이 20cm의 사각 투명 플라스틱 용기에 증류수를 15cm 까지 채우고 수온은 $37^\circ C$ 로 수영시간을 측정하였다. 수영실험은 12시간 절식시킨 후 체중을 달고 체중에 4%의 납을 달아 복에 걸고 수영을 시켰으며, 수영종료는 두 눈이 잠긴 정도의 수영이 5초간 진행되어 가라앉게 될 때를 수영가능 시간으로 종료하였다. 동물의 수영시간 측정은 생리식염수를 투여한 대조군과 인삼을 투여한 실험1군, 와일드 진생을 투여한 실험2군을 동일한 조건으로 측정하였다.

Weight-Loaded Forced Swimming Test - Toshitsugu Moriura와 David L. 등의 weight-loaded forced swimming test를 개량하여 실시하였다. 즉 가로 15cm, 세로 25cm, 높이 20cm의 사각 투명 플라스틱 용기에 증류수를 15cm 까지 채우고 수온은 $37^\circ C$ 로 수영시간을 측정하였다. 수영실험은 12시간 절식시킨 후 체중을 달고 체중의 1-10%에 해당하는 lead-wire를 걸어 수영시간을 측정한 결과 체중에 4%의 납을 달아 복에 걸고 수영을 시켰을 때 피로시험에 가장 적당하다고 판단되었다. 수영종료는 두 눈이 잠긴 정도의 수영이 5초간 진행되어 가라앉게 될 때를 수영가능 시간으로 종료하였다. 투여기간에 따른 효과를 관찰하기 위하여 7마리를 1군으로하여 실험전 1, 3, 5 및 7일간 투여한 실험군으로 분류하여 실험하였으며, 약물의 투여는 실험 30분전에 정구투여하였다.

총 사포닌 함량측정 - 건체 1-2g을 물 100mL에 넣고 분액깔대기에 이동시키고 Ether 100mL를 넣고 잘흔들음 클로로포름 60mL로 3회 추출한다. 추출액을 모두 합치고 잘 50mL로 washing후 추출액을 미리 건조 후 칭량한 농축 플라스크내에 넣고 감압 농축시킨다(105°C, 20분). 농축 후 데시케이터에서 방냉 후 무게를 칭량하여 총 사포닌 함량을 아래식으로 계산한다.

총 사포닌 함량 = (A-B)/ S(g) A:농축건조 flask 무게(mg) B:항양시킨 flask 무게(mg)

Ginsenoside Rb1 분석 - 검체 3g을 위하여 methanol 50mL에 넣고 여과 후 미리 활성화된 sep-pak에 3mL 전개시킨다. sep-pak을 물 10mL 및 30% methanol 15mL로 washing 후 methanol 10mL로 용출시킨다. 이것을 sample로 한다.

분석은 HPLC를 사용하며, column은 C18 reverse phase column(Luna, 10u)을 사용하고 유속은 0.6ml/min, 이동상은 20% Acetonitrile, detector는 UV detector (205nm)를 사용하였다.

결과

하중이 수영시간에 미치는 영향 및 항피로특정 모델 작성 - 정상 mouse는 30분 이상 수영할 수 있어 수영시간을 관찰하는데 시간이 많이 걸리고, 수영종료시에도 수영가능 종료시간을 결정하기가 어렵다. 따라서 mouse의 체중에 비례하여 일정량의 하중을 주어 실험하고 수영종료시간을 두눈이 5초이상 수면하에 침몰되는 시점으로 정하여 실험한 결과 아래 Table 1과 같이 하중의존적으로 수영시간이 단축되었다. 따라서 mouse에 4%하중을 주어 항피로효능을 검색하는 것이 가장 이상적이라고 생각된다.

Table 1. Relation of Swimming time-Load weight in Mice

Load Weight (% per body weight)	No of mouse	Swimming Time (min.)
0	7	>30
2	7	20.31±5.39*
3	7	8.34±2.29*
4	7	1.10±0.85*
5	7	0.5±0.06*

Each values represent the Mean±S.D. of 7 mice. Load weight was determined by the rate of body weight. End-point of swimming time shows mouse eyes could not again return to the surface of water for over 5 seconds. Load-dependently different from control (*, p<0.001)

인삼 및 와일드진생 산삼의 항피로 작용 - 위에서 설정한 4% 하중 부하 mouse에서 인삼과 와일드진생의 항피로작용을 측정한 결과 다음과 같이 항피로효능이 있었다 (Fig. 1).

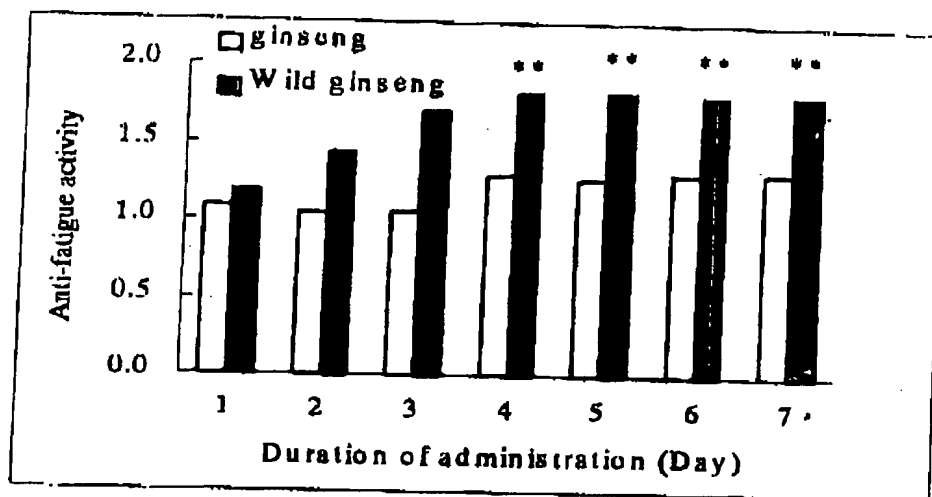


Fig. 1

- 1) Anti-fatigue activity = Swimming time of experimental group / Swimming time of control
- 2) We measured swimming time 30min after administration of ginseng or wild ginseng.
- 3) The mean value \pm S.D. of 7 animals.
- 4) Significantly different from control. (**, $p < 0.01$)

인삼 및 와일드진생 분말의 총사포닌 함량 - Fig.2에서 볼 수 있듯이 와일드진생에서 인삼보다 2배 정도의 총사포닌이 나왔다.

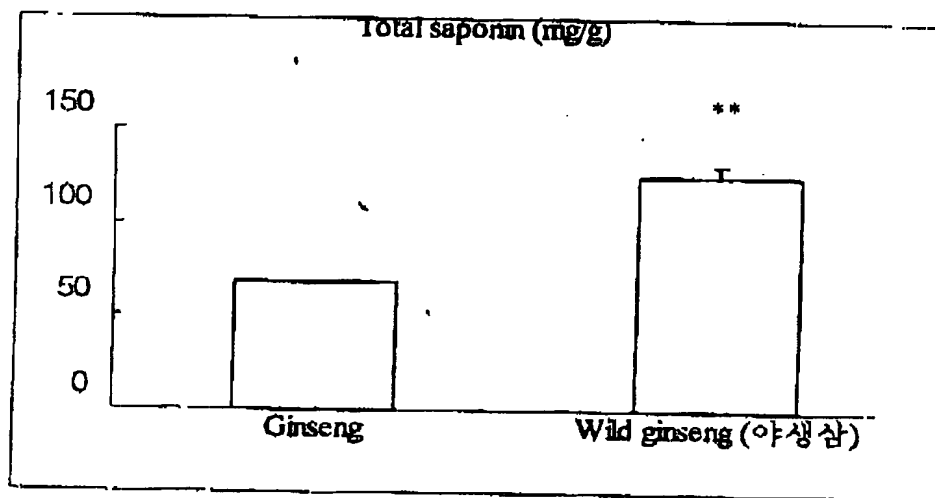


Fig 2. The concentration of total saponin in ginseng or Wild ginseng.
Significantly different from ginseng. (**, $p < 0.01$)

인삼 및 와일드진생 분말에서 ginsenoside Rb1, Rg1 함량 - Fig. 3에서 볼 수 있듯이 인삼이 와일드진생 분말에서 ginsenoside Rb1의 함량은 유의성 있는 차이를 나타내었다.

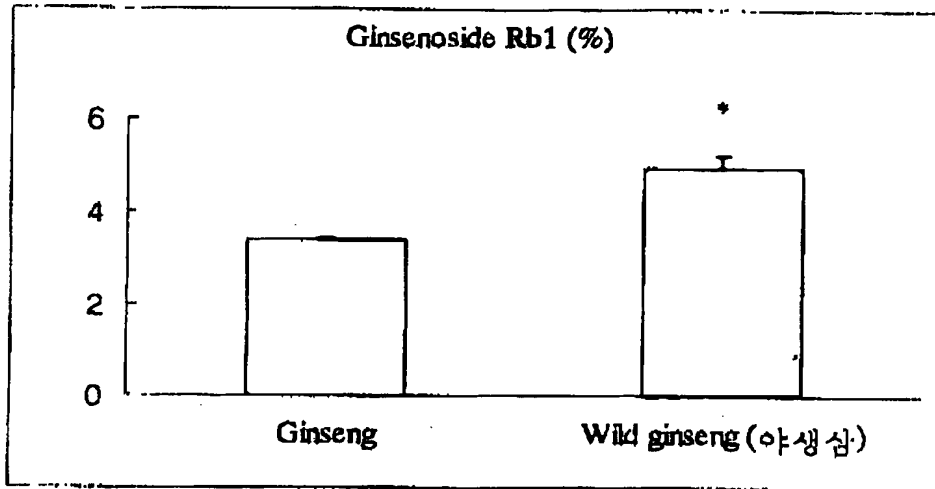


Fig 3. The concentration of ginsenoside Rb1 in ginseng or Wild ginseng.
Significantly different from ginseng. (*, $p < 0.05$)

결론 및 고찰

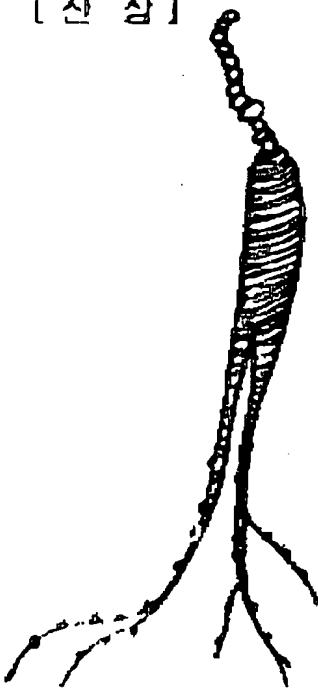
와일드진생에서는 인삼보다 총 사포닌 함량이 두배가량 높게 나왔다. Saponin중의 하나인 ginsenoside Rb1을 분석한 결과에서는 인삼과 산삼의 성분 함량 차이가 유의성은 있었으나, 크게 않았다. 총사포닌 함량에서는 인삼보다 와일드진생에서 2배가량 높게 나왔지만 ginsenoside Rb1에서는 그 차이가 크지 않은 것으로 보아 다른 구성 saponin (예를 들어 ginsenoside Rb2, Rc, Rd 등)의 함량이 많은 것으로 생각된다.

항피로 작용을 측정한 결과 와일드진생을 투여한 실험군은 투여한지 4일째부터 유의성있는 항피로 작용이 있었다. 인삼군도 투여일이 증가될수록 항피로작용이 있었으나 유의성은 없었다.

이와 같은 결과로 우리는 인삼보다는 와일드 진생이 약간 더 항피로 작용이 높음을 알 수 있었고 이와같은 작용은 정확하진 않지만 인삼이나 와일드진생 내의 특정 사포닌에 의한 것으로 생각할 수 있다. 여러 문헌에서 살펴본 결과 인삼의 성분 중 ginsenoside Rg1에 항피로 작용이 있는 것으로 알려져 있다. 우리가 측정하지는 않았지만 와일드진생에 ginsenoside Rg1이 더 많이 함유되어 있어서 항피로 작용이 더 높은 것으로 생각된다. 이를 확인하기 위해서 앞으로 ginsenoside Rg1을 측정하여야 할 것이다.

kskim@spharm.co.kr

[산삼]

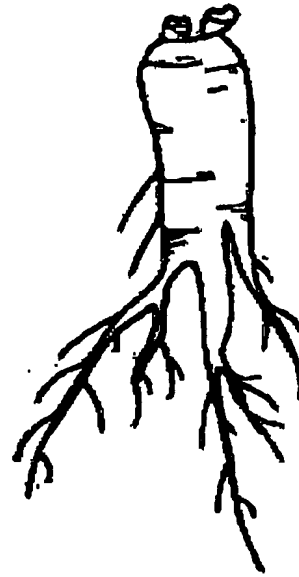


노: 가늘고 길다.
나이대로 매년
관개씩 뇌두가 생긴다.

동계: 가늘고 길다.
몸제에는 핏맥이 있고
이것이 많은것일수록
좋다.

잔뿌리: 딱딱하여 인장강도가
높다.
황금색이다.
얇고 쓰고 향기롭다.
육주가 있다

[재배인삼]



노: 짧다. 보통 뇌두가
1등~2등으로 나
어있다.

동계: 짧고 굵다.

잔뿌리: 짧고 잔 뿌리가 많다.
잔 뿌리는 약해서 잡이
당기면 쉽게 떨어진다.
흰 재색이다.
쓰고 달지인 산삼과
같은 향기가 없다.

[Translation]

SAMSUNG PHARMS. Ind. Co., Ltd.

Document No.: Samyak 00-6-7-108
Date: December 20, 2000
To.: Park Sa-Ryong Patent & Law Office
Title: Transmission of a specification for a new patent application regarding a tonic composition comprising wild ginseng as the main ingredient

We are sending herewith a specification regarding a tonic composition comprising wild ginseng as the main ingredient, and hereby request preparing and filing a patent application based on the specification.

Attached:

Specification for a tonic composition comprising wild ginseng as the main ingredient

Representative: Won-kyu KIM
SAMSUNG PHARMS Ind. Co., Ltd.
199-6 Mojin-dong, Kwanggin-ku, Seoul